



## AZIONE DI IONI IMBIBENTI E COLORANTI VITALI SULLO SVILUPPO EMBRIONALE (\*)

ROSA ASCIONE

**SVMMARIVM.** — SCN' et I, quemadmodum colorantia vitalia et nitrophenolia, efficiunt ut celerius embryo evolvatur. Haec duo genera substantiarum simili modo operantur ut iam in aliis casibus notis.

RANZI <sup>(1)</sup> <sup>(2)</sup> richiamò l'attenzione sul fatto che soluzioni di Na SCN o Na I e soluzioni di coloranti vitali (piocianina, blu di metilene, ecc.) o nitrofenoli causano lo stesso effetto in parecchi fenomeni dello sviluppo embrionale.

Le soluzioni di Na SCN, di NaI e quelle dei coloranti vitali e p. nitrofenolo determinano infatti:

ipersviluppo della corda in embrioni di Anfibi (cfr. RANZI <sup>(2)</sup> e lavori ivi citati);

evocazione in espianti ventrali di gastrule iniziali di Anfibi (RANZI e TAMINI <sup>(3)</sup> per Na SCN; BEATTY, DE JONG e ZIELINSKI <sup>(4)</sup> per i coloranti vitali; il NaI non è stato saggiato);

animalizzazione dello sviluppo dei ricci di mare (LINDAHL <sup>(5)</sup> per Na SCN e NaI e TAMINI <sup>(6)</sup> per i coloranti vitali e p. nitrofenolo).

(\*) Nota presentata dall'Accademico Pontificio Giuseppe Lepri il 25 maggio 1945.

(1) RANZI S., « Naturwiss », 1942, **30**, 329.

(2) RANZI S., « Boll. Soc. ital. Biol. sper. », 1943, **18**, 218.

(3) RANZI S. e TAMINI E., « R. Istit. Lombardo (Rend. Sc.) », **73**, 525.

(4) BEATTY R. A., S. DE JONG a. M. A. ZIELINSKI, « J. exp. Biol. », 1939, **16**, 150.

(5) LINDAHL P. E., « Acta Zool. », 1936, **17**, 179.

(6) TAMINI E., « Monit. zool. ital. », 1941, **52**, 81.

Un punto doveva però ancora esser preso in esame. DEOTTO<sup>(1)</sup> con soluzioni di piocianina e tionina aveva posto in evidenza un acceleramento dello sviluppo degli embrioni di riccio di mare. CITTERIO<sup>(2)</sup> aveva osservato che, con soluzioni di piocianina, si può determinare un acceleramento dello sviluppo dei girini di rana, acceleramento che ANDREASSI<sup>(3)</sup> ottenne per azione di alfa-dinitro-fenolo. Una simile accelerazione dello sviluppo non era però nota per azione di NaSCN e NaI, anzi RANZI e TAMINI<sup>(4)</sup> non l'avevano ottenuta agendo con varie soluzioni di NaSCN sullo sviluppo di rana e di axolotl.

È per questo che, lavorando presso la Stazione Zoologica di Napoli, mi sono proposta di vedere se con soluzioni di NaSCN, di NaI e, per controllo, di blu di metilene si potesse determinare un acceleramento dello sviluppo dell'embrione di riccio di mare (alcuni degli esperimenti con NaI sono stati eseguiti dalla dott.<sup>sa</sup> MIRANDA RAGUSA).

Il materiale, che ha servito per le mie ricerche è stato prevalentemente costituito da uova di *Paracentrotus lividus* (Lm.), e sul *Paracentrotus* sono gli esperimenti qui sotto illustrati; per qualche esperimento di controllo, che ebbe poi i medesimi risultati, mi sono servita di *Arbacia Lixula* (L.). All'acqua di mare, nella quale venivano fatte sviluppare le uova, aggiungevo soluzioni isotoniche di NaSCN · 2H<sub>2</sub>O (prodotto B. D. H.) (6,44 % = 0,65 M) o di NaI (prodotto Erba) (11,4 % = 0,67 M), ovvero una soluzione di blu di metilene secondo EHRLICH (prodotto Grüber) in acqua di mare. Ogni singolo esperimento venne eseguito con le uova di una sola femmina, fecondate con lo sperma di un solo maschio, ed ogni esperimento aveva il suo controllo, che era fatto con altrettante uova fecondate provenienti dalla medesima coppia di individui.

Fin dai primi esperimenti emerse che l'aumento della velocità di sviluppo, determinato da queste sostanze, non è grande. Era quindi particolarmente importante la scelta dello stadio al quale occorreva eseguire il controllo; dopo ripetute prove, scelsi il processo di formazione della blastula e aumento in dimensione di essa, aumento che,

(<sup>1</sup>) DEOTTO R., « Boll. Soc. Ital. Biol. sper. », 1939, 14, 327.

(<sup>2</sup>) CITTERIO P., « R. Ist. Lombardo (Rend. Sc.) », 1942, 75, 142.

(<sup>3</sup>) ANDREASSI G., « Boll. Soc. ital. Biol. sper. », 1941, 16, 668; 1942, 17, 61.

(<sup>4</sup>) RANZI S. e TAMINI E., « R. Ist. Lomb. (Rend. Sc.) », 1942, 75, 695.

come è ben noto, si accompagna ad una diminuzione dell'altezza delle sue cellule. Questo processo segue di poco la schiusa, la rottura cioè della membrana di fecondazione. Stadi successivi non ho creduto dover prendere in esame, perchè cominciano ad entrare in giuoco i fenomeni di animalizzazione determinati dalle tre sostanze prese in esame.

Gli esperimenti per saggiare l'azione di NaSCN dimostrano che, aggiungendo a 100 cc. di acqua di mare 3,4 — 5,0 — 7,5 — 11,3 cc. di soluzione isotonica di NaSCN, con 3,4 e 11,3 cc. non si ottiene un'accelerazione, anzi con 11,3 cc., a volte, si osserva un ritardo. Si osserva invece accelerazione con l'aggiunta di 5,0 ovvero 7,5 cc.

Così in allevamenti condotti a 14°-15° troviamo che, a 19 ore di età dalla fecondazione, gli embrioni che avevano sempre soggiornato in 100 cc. acqua di mare + 7,5 cc. soluzione isotonica di NaSCN erano blastule con pareti più sottili dei controlli e molto più mobili di questi. Il diametro medio di queste blastule al NaSCN era 103,6  $\mu$  quello del blastocele 55,5  $\mu$ . Le blastule controllo avevano un diametro di 96,2  $\mu$  con blastocele di 44,4  $\mu$  ed erano meno mobili. In altro esperimento, condotto con uova di altra femmina, a 17 ore di età dalla fecondazione, in analoghe condizioni sperimentali, le blastule trattate avevano un diametro di 111,0  $\mu$  con blastocele di 66,6  $\mu$  mentre, nei controlli, il diametro era 103,6  $\mu$  con blastocele di 37,0  $\mu$ . Anche la schiusa delle larve trattate fu, nei due casi, più precoce dei controlli.

Analogo risultato si ottiene con NaI. Aggiungendo a 100 cc. di acqua di mare 1,0 — 2,5 — 5,0 — 10,0 cc. di soluzione isotonica di NaI, si vede che mentre l'aggiunta di 1,0 e 2,5 cc. dà un risultato dubbio, forse in qualche caso un leggerissimo acceleramento, l'aggiunta di 5,0 cc., e in qualche caso quella di 10,0 cc. determina netto acceleramento. Così in un allevamento di 100 cc. di acqua di mare + 5,0 cc. soluzione isotonica di NaSCN, la blastula ancora negli involucri, a ca. 20 ore di età, misurava 109,0  $\mu$  di diametro con blastocele di 49,8  $\mu$ , mentre nel controllo il diametro della blastula era 97,8  $\mu$ , quello del blastocele 40,1  $\mu$ .

Lo stesso si ottiene col blu di metilene. Con questo colorante vitale ho saggiato soluzioni all'1  $\cdot 10^{-4}$  %, 3  $\cdot 10^{-2}$  %, 1  $\cdot 10^{-2}$  %, 3  $\cdot 10^{-3}$  %, 1  $\cdot 10^{-3}$  % in acqua di mare. La prima di queste soluzioni si è palesata ritardante, tutte le altre acceleranti più o meno lo sviluppo. La differenza tra i controlli e le forme trattate corrisponde a quella osser-

vata con  $\text{NaSCN}$  e  $\text{NaI}$ . Anche col blu di metilene può osservarsi una schiusa più precoce.

Il risultato delle presenti ricerche, eseguite nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata della R. Università di Milano, ospitato presso la Stazione Zoologica di Napoli, è pertanto un'altra identità di risposta degli embrioni all'azione di  $\text{SCN'}$  e  $\text{I'}$  da una parte, dei coloranti vitali e nitrofenoli dell'altra. L'azione accelerante sullo sviluppo, già nota per coloranti vitali e nitrofenoli, può osservarsi anche con  $\text{SCN'}$  e  $\text{I'}$ .